

In-vitro-Untersuchungen über die Aktivität
einiger Fermentpräparate im Hinblick auf
ihre Verwendung in der Tierernährung

Wolf-Ulrich Ahrens

1961

Aus dem Institut für Physiologie und Ernährung der Tiere
der Tierärztlichen Fakultät an der Universität München
Vorstand: Professor Dr. Dr. Johannes Brüggemann

IN-VITRO-UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DIE AKTIVITÄT EINIGER FERMENTPRÄPARATE
IM HINBLICK AUF IHRE VERWENDUNG
IN DER TIERERNÄHRUNG

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

von
Wolf-Ulrich Ahrens
aus
Schwerin/Mecklenburg

München 1961

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. A. Meyn

Referent: Prof. Dr. Dr. J. Brüggemann

Tag der Promotion: 24. 2. 1961



Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung	1
A. Eigenschaften, Zusammensetzung und Einteilung der Fermente unter besonderer Berücksichtigung der Verdauungsfermente	3
B. Fermente in der Tierernährung	8
C. Eigene Versuche	11
1. Versuchsanordnung	12
2. In-vitro-Untersuchungen der proteolytischen Aktivität der Fermentpräparate	12
a) Proteolytische Aktivität der Fermentpräparate im sauren Milieu	13
b) Proteolytische Aktivität der Fermentpräparate im sauer-alkalischen Milieu	13
c) Proteolytische Aktivität der Fermentpräparate im ausschließlich alkalischen Milieu	17
d) Diskussion der Ergebnisse	20
3. In-vitro-Untersuchungen der lipatischen Aktivität der Fermentpräparate	21
a) Bestimmung der lipatischen Fermentaktivität im sauren Milieu	21
b) Bestimmung der lipatischen Fermentaktivität im alkalischen Milieu	23
c) Ergebnisse	23
4. In-vitro-Untersuchungen der amylolytischen Aktivität der Fermentpräparate	24
a) Bestimmung der amylolytischen Fermentaktivität im sauren Milieu	24

	Seite
b) Bestimmung der amylolytischen Ferment- aktivität im alkalischen Milieu	24
c) Bestimmung der amylolytischen Ferment- aktivität im sauer-alkalischen Milieu	24
d) Ergebnisse	28
5. In-vitro-Untersuchungen der cellulatischen Fermentaktivität	28
Zusammenfassung	29
Literaturverzeichnis	30
Lebenslauf	33

EINLEITUNG

Der Einsatz von Fermenten in der Tierernährung muß wie jeder Futtermittelzusatz in erster Linie unter dem Gesichtspunkt der Wirksamkeit und Unschädlichkeit betrachtet werden. Da im Verdauungssystem ständig hochwirksame Fermente selbst gebildet und darüber hinaus mit der pflanzlichen und tierischen Nahrung fortlaufend Fermente unterschiedlicher Art aufgenommen werden, ist die Unschädlichkeit grundsätzlich wohl als gegeben anzusehen. Geprüft werden muß in dieser Hinsicht aber, ob besonders hohe Konzentrationen (wenn sich diese als wirksam erweisen sollten) schädigende Einflüsse haben, oder ob Beimengungen die Gesundheit und Leistungsfähigkeit der Tiere oder der die tierischen Produkte verzehrenden Menschen gefährden.

Die Wirksamkeit von Fermenten für die tierische Ernährung kann ebenfalls grundsätzlich als bewiesen gelten, da eine Zerlegung der Nahrung in die artunspezifischen, resorbierbaren Bausteine ohne Fermente nicht möglich ist. Ob allerdings die zusätzliche Verabreichung von Fermentpräparaten in einer Nahrung eine leistungssteigernde Wirkung hat, bedarf der Nachprüfung. Aus der Therapie her ist bekannt, daß bei Fermentschwäche oder Ausfall ganzer Fermentsysteme im Intestinum die Verabreichung von Fermentpräparaten zu einer Verbesserung der Verdauung und zu einer normalen Ausnutzung der Nahrung führen kann. Es läßt sich daraus theoretisch herleiten, daß auch dann ein Einsatz von Fermenten wirkungsvoll sein kann, wenn zwar der normale Fermenthaushalt im Verdauungstrakt gegeben ist, die Nahrung aber so schwer verdaulich ist, daß die physiologische Fermentaktivität zur Zerlegung nicht ausreicht.

In den letzten Jahren hat die ansteigende Intensivierung in der landwirtschaftlichen Tierhaltung zu dem Bestreben geführt, die Jungtiere möglichst früh von den Muttertieren zu trennen. Die Jungtiere werden dann mit einem Ersatz für Muttermilch gefüttert. Da das intestinale Fermentsystem aber zunächst nur auf die Verdauung der Milch eingestellt und erst mit ca. 5 bis 7 Wochen voll ausgebildet ist, kann das Milchaustauschfutter von früher abgesetzten Jungtieren gar nicht oder nur schlecht verdaut werden. Hier ist die Möglichkeit gegeben, dem Milchersatz standardisierte Fermentpräparate in noch zu bestimmender Konzentration beizumischen,

um so in der Anlaufzeit die temporäre Verdauungsschwäche zu überbrücken. Zur besseren Verdauung und damit besseren Resorption könnte auch bei ausgewachsenen Tieren bei der Verabreichung von an sich unverdaulichem oder schwer verdaulichem Futter sowie für die Verbesserung der Verwertung von an sich verdaulichen Nahrungsstoffen eine Beimischung von Fermenten gegeben sein.

In der vorliegenden Arbeit wurde geprüft, inwieweit durch in-vitro-Versuche die Fermentaktivität verschiedener Fermentpräparate nachgewiesen werden kann. Der Arbeitsgang sollte dabei möglichst weitgehend die physiologischen Gegebenheiten monogastrischer Nichtherbivoren berücksichtigen, weil sich vor allem bei diesen Tierarten (Schwein, Geflügel) der Fermenteinsatz zu lohnen scheint. Außerdem besteht die Wahrscheinlichkeit, daß bei Nachweis einer Aktivität bei derartigem Vorgehen auch im Tierversuch eine Wirkung vorhanden ist.

A. EIGENSCHAFTEN, ZUSAMMENSETZUNG UND EINTEILUNG DER FERMENTE UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER VERDAUUNGSFERMENTE

Nach einer Definition von Wilhelm Ostwald ist eine Katalyse "die Beschleunigung eines langsam verlaufenden chemischen Vorganges durch die Gegenwart eines fremden Stoffes". Derartige Katalysen sind aus der Chemie in großer Zahl bekannt und der "fremde Stoff", der den von sich aus langsam verlaufenden chemischen Vorgang beschleunigt, wird Katalysator genannt. Man hat nun diese Begriffsbestimmung auch auf fermentative Vorgänge angewandt, wobei das Ferment, auch als Enzym bezeichnet, als Bio-katalysator herausgestellt wurde. Im Verlauf der Forschung wurde aber gefunden, daß Fermente nicht nur chemische Vorgänge beschleunigen, sondern daß sie zum Teil Reaktionen auszulösen in der Lage sind, die ohne ihre Gegenwart überhaupt nicht (oder in nicht meßbarer Geschwindigkeit) ablaufen. Die Fermente können also an sich sehr stabile Bindungen reaktionsfähig machen, d. h. sie vermögen sie zu aktivieren. Eine Voraussetzung für diese Aktivierung nun ist die Verbindung des Ferments mit dem reagierenden Stoff, dem Substrat. Im Verlauf der Reaktion wird aber das Ferment wieder freigesetzt; es ist also kein Inhaltsstoff der Endprodukte. Durch die Verbindung des Ferments mit dem Substrat ist die für eine Reaktion notwendige, z. T. sehr hohe Aktivierungswärme herabgesetzt. Die Reaktion kann also unter Bedingungen ablaufen, die ohne Fermentanwesenheit keine Reaktion der Reaktionspartner gestatten würden. Die Aktivierung durch Fermente ist in sehr hohem Grade selektiv (im Gegensatz zur Wärmeaktivierung, die wahllos auf alle Reaktionspartner wirkt); je nach der Art des Ferments werden nur ganz bestimmte Bindungen reaktionsfähig gemacht.

Die Wirkung der Fermente ist genau wie die der Katalysatoren auf die Aufhebung einer mehr oder weniger starken, eventuell vollständigen Reaktionsträgheit beschränkt. Es kann dann die Reaktion entsprechend dem Gefälle der freien Energie ablaufen. Eine chemische Reaktion, die auf Grund eines eingetretenen oder geschaffenen Gleichgewichts der Reaktionspartner zum Stillstand gekommen ist, kann weder durch Katalysatoren noch durch Fermente wieder in Gang gesetzt werden. Lediglich andere energieliefernde Prozesse (z. B. Spaltungs- oder Oxydationsvorgänge) vermögen Reaktionen, die dem Gefälle der freien Energie entgegenlaufen, auszulösen.

Jede Zelle, sei sie pflanzlicher, tierischer oder mikrobischer Natur, bildet Fermente. Es ist möglich, die Fermente von ihren Zellen zu isolieren. Dabei zeigt es sich, daß sie Eiweißnatur besitzen, thermolabil sind und auf Eiweißproben positiv reagieren. Bei einigen Fermenten ist es gelungen, sie in zwei Komponenten, eine prosthetische Gruppe, das Coferment, und einen Eiweißkörper, das Apoferment, zu zerlegen. Coferment und Apoferment für sich allein sind unwirksam, vereinigt bilden sie das wirksame Holoferment. Der Vorgang der Trennung der Komponenten ist reversibel. Das Coferment ist Träger der Wirkungsspezifität; von ihm ist es abhängig, in welcher Weise das Substrat angegriffen wird, z.B. reduzierend oder hydrolysierend. Es ist niedermolekular und thermostabil. Verschiedene Vitamine, besonders der B-Gruppe, sind als Cofermente erkannt worden. Das Apoferment wirkt im Zusammenhang mit dem Coferment spezifisch auf die Reaktionen bestimmter Verbindungen. Es ist der thermolabile Faktor im Ferment und im Gegensatz zum Coferment ein hochmolekularer Eiweißkörper.

Es scheint, daß die große Mannigfaltigkeit der Fermentwirkungen hauptsächlich durch die Variation der Eiweißkomponenten, der Apofermente, bewirkt wird.

Die Aktivität der Fermente ist von verschiedenen Gegebenheiten abhängig. Sie ist proportional der Temperatur. Diese Proportionalität gilt allerdings nur bis zu + 40 bis 50 ° C. Bei höheren Temperaturen treten Denaturierungserscheinungen des Apofermentes auf, die die Reaktion verlangsamen und bei längerem Einwirken den Vorgang zum Stillstand bringen (1). Für jedes Ferment gilt ein bestimmter p_H -Bereich als Reaktionsoptimum, der für Pepsin zwischen p_H 1,5 und p_H 1,6 und für Trypsin zwischen p_H 7,8 und p_H 8,7 liegt. Auch anwesende Ionen können auf Fermente als Aktivatoren und Inhibitoren wirken; so wird Pepsin erst durch HCl aktiviert. Daneben gibt es für einige Fermente spezifische Inhibitoren, die die Fermentwirkung vollkommen aufheben; man spricht von Antifermenten.

In der Einteilung der Fermente wurde lange Zeit an den beiden Gruppen Hydrolasen und Desmolasen festgehalten. Es hat sich jedoch bald gezeigt, daß nicht alle Fermentreaktionen in dieses System hineinpassen, so daß heute wohl mindestens 7 Fermentgruppen für eine Einteilung notwendig sind (2).

1. Hydrolasen

(allgem. Reaktion: $AB + H_2O \rightleftharpoons AOH + HB$)

a) C-N-Bindung lösend

b) C-O- " "

2. Phosphorylasen

(allgem. Reaktion: $AB + H_3PO_4 \rightleftharpoons AOPO_3H_2 + HB$)

3. Hydratasen

(allgem. Reaktion: $A + H_2O \rightleftharpoons HAOH$)

4. Desmolasen

(allgem. Reaktion: $\begin{array}{ccc} -C-C & \rightleftharpoons & -C-C- \\ OH & & O \ H \end{array}$)

a) Decarboxylasen

b) Aldolasen

5. Gruppenübertragende Fermente

(allgem. Reaktion: $AX + B \rightleftharpoons A + BX$)

6. Isomerasen

7. Oxydoreduktasen

a) Oxydasen

b) Dehydrasen

c) Glyoxalasen

Hinsichtlich der Verdauung sind es in erster Linie die Hydrolasen, denen besonderes Interesse entgegengebracht werden muß. Man findet hier bei den C-N-Bindung lösenden Fermenten neben den Desaminasen die Proteasen (Proteinasen, Polypeptidasen, Dipeptidasen u. a. m.). Zu der Untergruppe der C-O-Bindung lösenden Fermente gehören die Esterasen (Lipasen, Phosphatasen u. a.), die Carbohydrasen (Maltasen, Glycosidasen, Saccharasen u. a.) sowie die Nucleasen. Die Hydrolasen haben die Aufgabe von Protonendonatoren. Die Protonen bewirken bei der Spaltung einer C-O-Bindung, bei den Lipasen und Carbohydrasen, eine Aktivierung des Sauerstoffatoms und bei Spaltung einer C-N-Bindung, bei den Proteasen, eine Aktivierung des Stickstoffatoms (3).

Eine nähere Betrachtung der Proteasen zeigt, daß sie die Peptidbindung $-CO-HN-$ durch Wassereinlagerung in $-COOH + H_2N-$ spalten. Die Proteinase spalten dabei die Proteine zu Polypeptiden. Ihr Angriff auf die Eiweißkörper führt also nicht zur vollständigen Spaltung in freie Aminosäuren. Die Proteinase greifen in der Regel denaturierte Proteine viel besser an als native. Zu dieser Gruppe gehört das Pepsin, das in stark saurem Bereich sein Wirkungsoptimum hat und das die Eiweißkörper zu Albumosen und Peptonen, also hochmolekularen, nicht näher identifizierten Spaltungsprodukten abbaut. Auch Trypsin und Chymotrypsin gehören zu dieser Gruppe. Sie haben ihr Wirkungsoptimum im leicht alkalischen Bereich und setzen im Intestinum die durch Pepsin im Magen begonnene Verdauung fort. Es entstehen dabei ebenfalls Polypeptide von geringerem Molekulargewicht sowie auch freie Aminosäuren. Auf die Fermentaktivierung sowohl des Pepsins durch die Umwandlung aus dem Pepsinogen, einem autokatalytischen Vorgang, sowie des Trypsins durch Einwirken von Enterokinase auf das Trypsinogen, soll hier nicht näher eingegangen werden.

Im Darm finden sich neben den Proteinase auch Peptidase, die ausschließlich endständige Aminosäuren abzuspalten in der Lage sind. (Im Gegensatz dazu hydrolysieren die Proteinase nur Peptidbindungen im Innern von Peptidketten.) Es werden hier Carboxypeptidase von Aminopeptidase unterschieden. Erstere spalten Aminosäuren mit freier Carboxylgruppe, letztere Aminosäuren mit freier Aminogruppe aus Peptiden ab. Für die Abspaltung von Prolin ist eine eigene Prolinase oder Prolidase erforderlich.

Wie erwähnt, gehören auch die kohlehydratspaltenden Fermente zu den Hydrolase. Im Magen-Darmtrakt werden sowohl Polyase gefunden, die also hochmolekulare Kohlehydrate zu kleineren Bruchstücken (α -Amylase) oder auch einzelnen Zuckern (β -Amylase) spalten, als auch Disaccharase, die die Disaccharide zu Monosacchariden abbauen. Die Disaccharase scheinen nach neueren Untersuchungen einheitlicher Natur zu sein, d.h., daß die Hydrolyse aller Hexosen-Disaccharide durch das gleiche Ferment möglich ist.

Die Lipase gehören zu den Esterase, die, wie oben aufgeführt, eine Untergruppe der Hydrolase bilden. Sie sind in ihrer Wirkung gekennzeichnet durch die Aufspaltung der Glycerinester in ihre beiden Komponenten Glycerin und Fettsäuren. Es entstehen so z.B. aus den Nahrungsfetten direkt oder nach weiterer Umwandlung durch die Darmschleimhaut

resorbierbare Teilstücke. Die Spezifität der Lipasen ist ähnlich wie bei den Disaccharasen nicht sehr ausgeprägt; es werden durch sie nicht nur Glyzeride, sondern darüber hinaus eine große Zahl weiterer Ester hydrolysiert. Die Pankreaslipase hat ihre optimale Wirksamkeit bei pH 7-8, Magenzym, deren Vorhandensein z. T. bestritten wird, wirkt demgegenüber in stark saurem Gebiet.

B. FERMENTE IN DER TIERERNÄHRUNG

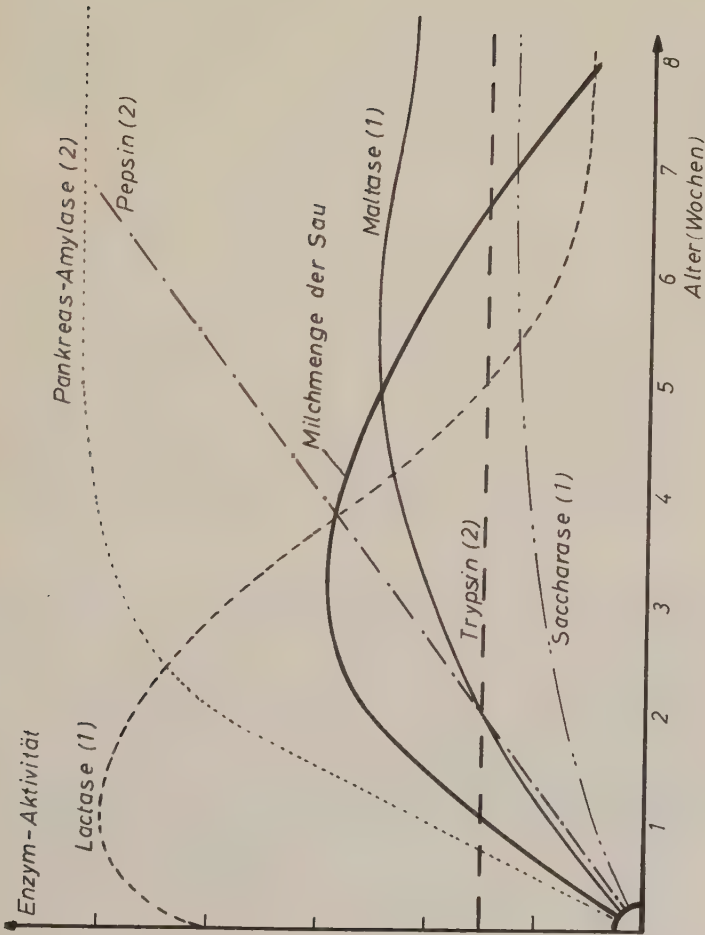
Wie schon in den vorhergehenden Abschnitten geschildert wurde, ist das neugeborene Tier in den ersten Tagen seines Daseins ausschließlich auf die Verdauung der Muttermilch eingestellt. Erst allmählich beginnt die Aktivität der einzelnen Fermente im Verdauungstraktus zu steigen, so daß erst mit fortgeschrittenem Alter andere Nahrungsstoffe verdaut werden können. Diese Verdauung ist aber bis zur 5. bis 7. Woche auch nur recht unvollständig, weil erst dann das Fermentsystem voll ausgebildet ist. Eingehende Untersuchungen dazu wurden am Ferkel durchgeführt (4).

Eine Ausnahme von dieser allgemeinen Entwicklung bildet nur die Laktase-Aktivität, die nach kurzem Anstieg auf ein Minimum herabsinkt, etwa der Milchsekretion der Sau entsprechend. Die Trypsinaktivität bleibt von Geburt an gleichmäßig hoch, ist also scheinbar vom Alter unabhängig. Im Gegensatz zu der aus Abb. 1 ersichtlichen, kontinuierlich anwachsenden Pepsinaktivität berichten Kvasnitskii und Bakeeva (5), daß Pepsin vom ersten Tag an im Magen von Ferkeln vorhanden sei. Die Produktion von HCl, dem Aktivator von Pepsin, beginne aber erst zwischen dem 20. und 30. Tag und habe ihr Maximum ca. am 50. Tag erreicht. Bei Säuglingen soll nach Vazques (6) dagegen die Lipase- und Trypsin-Produktion in sehr vielen Fällen erst am 15. bis 20. Tag beginnen.

Mit Versuchsergebnissen, in denen Angaben über die Wirkung von Fermenten als Futtermittelzusatz an früh abgesetzten Ferkeln gemacht wurden, begann 1955 eine Forschergruppe der Iowa State University erste Ergebnisse zu veröffentlichen. Catron (7) erklärte die großen Schwankungen der Gewichtszunahmen in diesen Versuchen damit, daß das Basisfutter nicht immer die gleiche Zusammensetzung gehabt und die Nahrung den Verdauungstrakt verschieden schnell passiert habe. Cunningham und Brisson (8) fütterten 7 Tage alte Ferkel mit Sojaschrot oder Fischmehl als Eiweißkomponente, dem sie Pepsin als Beifutter zugaben. Ein großer Teil der Versuchstiere ging noch vor dem Ende der Versuche ein. Die Forscher nehmen an, daß der Mißerfolg auf einen Mangel an HCl im Ferkelmagen zurückzuführen ist. So berichten auch William und Knodt (9), daß sich ein Zusatz von Pepsin und Pankreatin zum Milchersatz bei Kälbern als schädlich erwies. Scharpenseel (10) dagegen erzielte bei Kükenaufzucht mit nicht vollwertigem Eiweiß bei einem Zusatz von Papain eine ca. 15 % höhere Gewichtszunahme. Ebenso berich-

Abbildung 1

Entwicklung des Verdauungsfermentsystems bei Ferkeln (4)



1) Bailey, et al. Can. J. Agr. Sc. 36/51, 1956
2) Iowa, Agr. Exp. Station, Exp. 679.

ten Lewis (11) und Mitarbeiter von einem Erfolg bei Zusatz von proteolytischen und amylolytischen Fermenten zur Basaldiät. Sehr eingehend wurde der Einsatz von Fermenten für Gerste-Rationen bei wachsendem Geflügel untersucht. Insbesondere Jensen (12, 13, 14) und Mitarbeiter haben eine Verbesserung der Gewichtszunahme und der Futterverwertung bei Zufütterung pflanzlicher und pilzlicher Enzyme (wie auch bei vorheriger Wasserbehandlung) festgestellt. Cunningham (15) untersuchte den Einfluß von Pankreasamylase auf rohe und lösliche Stärke bei ganz jungen Ferkeln. Dabei wurde festgestellt, daß eine Amylasezugabe bei roher Stärke keinen Einfluß auf eine Verbesserung der Verdaulichkeit hatte. Die Verdaulichkeit schien bei löslicher Stärke durch Amylasezugabe besser zu werden.

C. EIGENE VERSUCHE

Es wurden 10 handelsübliche Fermentpräparate mehrerer deutscher Firmen auf ihre proteolytische, lipatische, amylolytische und cellulatische (Rohfaser lösende) Aktivität geprüft. Die rein proteolytischen Fermentpräparate wurden nur bei Untersuchungen über die Eiweißverdauung berücksichtigt. Ein französisches Präparat, das auf *Lactobacillus acidophilus* und *Lactobacillus biphidus* als Fermentdonatoren basiert, ergab keine Erhöhung der Verdauungsaktivität, so daß es in den Darstellungen nicht berücksichtigt wurde. Die Substrate wurden jeweils so gewählt, wie es für die Untersuchungen am geeignetsten erschien. Für die jeweiligen Untersuchungen wurde ein Substrat-Ferment-Gemisch eingewogen, dessen Verhältnis bei den einzelnen Versuchsreihen konstant blieb. Das Gemisch wurde in Wasser gelöst, der jeweilige p_H -Wert mit HCl bzw. NaOH eingestellt und die Lösung während der Verdauungszeit im Brutschrank auf $37^{\circ}C$ gehalten. Da die einzelnen spezifischen Aktivitäten der Fermentpräparate nicht bekannt waren und die Versuchsanordnung nicht dem allgemeinen Verfahren für die Feststellung der Aktivitätseinheiten entsprach, war es notwendig, von einer jeweils gleichen Präparatmenge für die Versuche auszugehen. Diese Menge wurde relativ hoch gewählt, um die Ermittlung einer vorhandenen Aktivität auf jeden Fall zu erfassen. Auf diese Weise konnten mehr oder weniger gute Resultate der in-vitro-Versuche auf eine höhere oder geringere Aktivität der Präparate unter den gegebenen Versuchsanordnungen zurückgeführt werden.

Wenn hierbei eine 100 %ige Aufspaltung der Substrate durch mehrere Fermentpräparate erreicht worden wäre, so hätte die Präparatkonzentration soweit gesenkt werden müssen, daß eventuell vorhandene Unterschiede sichtbar geworden wären. Spätere Versuche an wachsenden Ratten mit den gleichen Präparaten sollten dann klären, wie weit bei einer gegebenen Kost und gleicher Fermentpräparatkonzentration (also unabhängig von der durch die in-vitro-Versuche festgestellten Aktivität) eine Beeinflussung der Gewichts- und Stickstoffzunahmen besteht. Gegebenenfalls festgestellte Korrelationen zwischen den in-vivo- und in-vitro-Ergebnissen bedürfen dann späterer Untersuchung.

1. Versuchsanordnung

Die Untersuchungen erfolgten gemäß den physiologischen Gegebenheiten monogastrischer Tiere. Daraus ergeben sich bei jedem Ferment für jede Untersuchung drei Gruppen:

Gruppe 1: Für die Prüfung der Aktivität der Fermente im sauren Milieu, der Magenverdauung entsprechend, wurde die Substrat-Ferment-Suspension für 48 Stunden auf einem p_H -Wert von 1,5 gehalten.

Gruppe 2: Nach der Behandlung wie in Gruppe 1 wurde die Suspension anschließend für 24 Stunden auf p_H 8 gebracht, um so entsprechend der im Tierkörper nachfolgenden Duodenal-Verdauung zu verfahren.

Gruppe 3: Es erscheint möglich, daß einige Fermente durch das stark saure Milieu während der ersten 48 Stunden denaturiert werden. So kann die Aktivität beeinträchtigt oder ganz aufgehoben werden. Andererseits aber besteht die Möglichkeit, diese Fermente durch umhüllende Substanzen, die sich erst im basischen Milieu lösen, vor der Denaturierung zu schützen. Aus diesem Grunde wurde die Aktivität für 24 Stunden auch in ausschließlich alkalischem Bereich bei p_H 8 geprüft.

Die Richtigkeit der Ergebnisse wurde durch Doppelbestimmung gesichert. Zur Auswertung der Ergebnisse wurde jedes Substrat ohne Fermentzusatz den gleichen Versuchen unterworfen, um festzustellen, welche Mengen der zu prüfenden Substanzen bereits ohne Fermentzusatz in Lösung gehen (Blindwert).

2. In-vitro-Untersuchungen der proteolytischen Aktivität der Fermentpräparate

In diesen Versuchen wurden 3 g Substrat und 0,5 g Fermentpräparat analytisch genau in einem Becherglas eingewogen. Durch Zugabe von 245 ml Wasser und 5 ml 25 %ige Salzsäure wurde etwa das saure Milieu des Magens eingestellt. Für jede Versuchsreihe wurden drei Ansätze benötigt.

Ansatz 1 wurde sofort mit 150 ml 20 %ige Trichloressigsäure ausgefällt, filtriert, und das Filtrat auf 500 ml aufgefüllt. In 100 ml Filtrat wurde der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt (Doppelbestimmung), um so feststellen zu können, wieviel N sofort in Lösung gegangen war (Blindwert).

Ansatz 2 und 3 wurden für 24 Stunden in einem Brutschrank bei 37°C gehalten, dann noch einmal mit 5 ml 25 %iger Salzsäure versetzt und für weitere 24 Stunden in den Brutschrank gestellt. Ansatz 2 wurde nun ausgefällt und der Stickstoff wie bei Ansatz 1 bestimmt. Dieser Ansatz entspricht der sauren Verdauung im Magen.

Ansatz 3 wurde mit NaOH auf $\text{pH } 8$ gebracht, für weitere 24 Stunden in den Brutschrank gestellt und dann ebenfalls mit Trichloressigsäure ausgefällt. Dieser Ansatz entsprach dann der Verdauung im Magen und Duodenum gemeinsam.

Als Substrat für diese Untersuchungen wurden Kälbernährmehl und Magermilchpulver gewählt.

a) Proteolytische Aktivität der Fermentpräparate im sauren Milieu

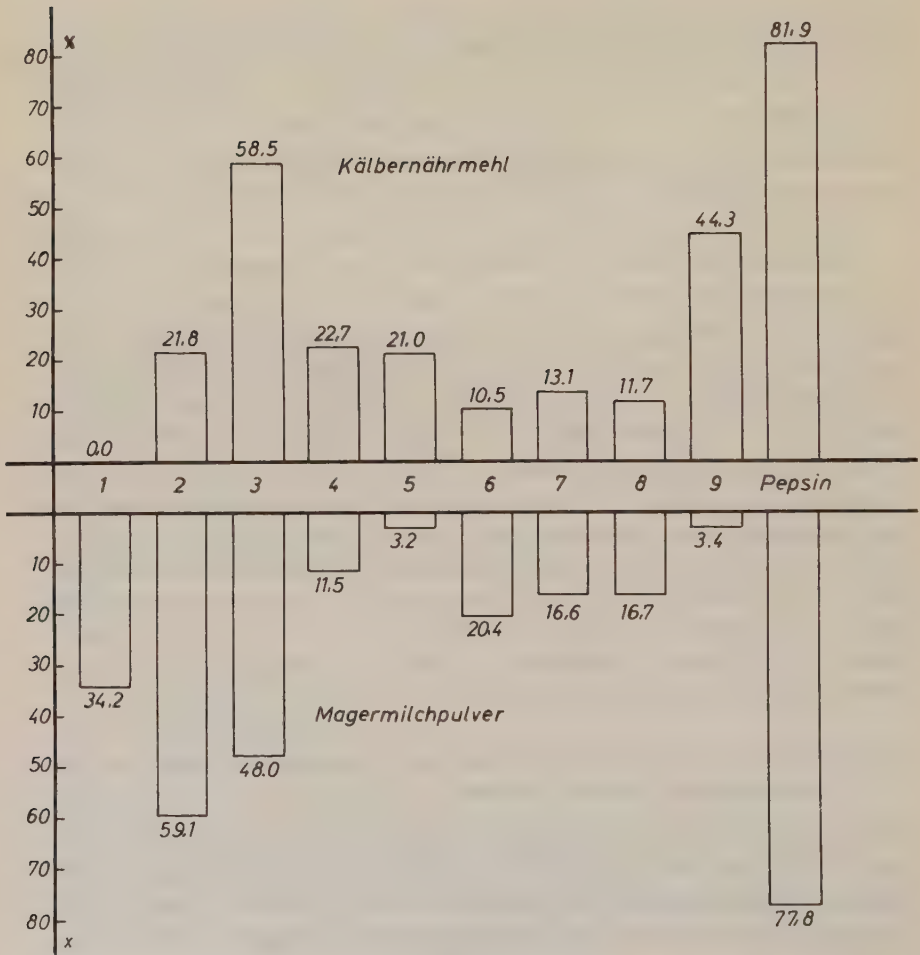
Wie aus Abb. 2 zu ersehen ist, sind die proteolytischen Aktivitäten der untersuchten Fermentpräparate unter den angewandten Versuchsbedingungen sehr unterschiedlich. Die höchste in-vitro-Verdaulichkeit wurde durch Pepsin bei beiden Substraten erzielt (81,9 % bei Kälbernährmehl, 77,8 % bei Magermilchpulver). Auch das Präparat 3 führte bei den beiden geprüften Substraten zu einer guten Verdaulichkeit. Während das Enzympräparat 9 eine sehr gute proteolytische Wirkung beim Kälbernährmehl hatte, waren die Fermentpräparate 1 und 2 statt dessen beim Magermilchpulver wirksamer. Offenbar besteht bei diesen 3 Präparaten eine Abhängigkeit der Wirkung vom Substrat. Die übrigen Werte liegen zu tief, um bei der hohen verwendeten Fermentkonzentration von einer im Tierversuch erfolgversprechenden Wirksamkeit sprechen zu können.

b) Proteolytische Aktivität der Fermentpräparate im sauer-alkalischen Milieu

Ein Vergleich der sauer-alkalischen Verdauung von Kälbernährmehl (Abb. 3) und Magermilchpulver (Abb. 4) zeigt, daß die Hälfte der Präparate beim Milchpulver bedeutend mehr N gelöst hat als beim Kälbernährmehl. Bei beiden Substraten ist zum Teil ein wesentlicher Anstieg des gelösten N im Vergleich zur ausschließlich sauren Verdauung (Abb. 2) festzustellen.

Während beim Kälbernährmehl die Präparate 2, 3, 9 und Pepsin keine oder nur eine sehr geringe Steigerung des gelösten N durch nachfolgende

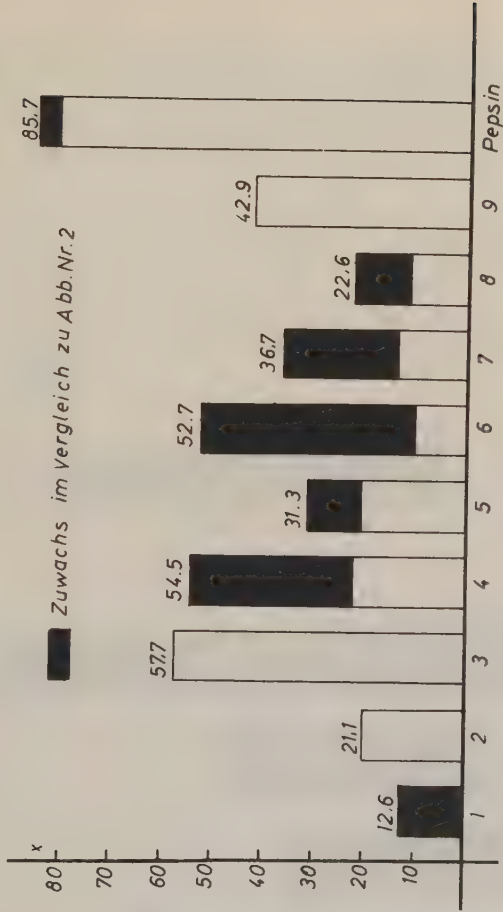
Abbildung 2
Proteolytische Aktivität im sauren Milieu (p_H 1,5)



+) Angaben in % der bei gleicher Behandlung ohne Fermentzusatz ungelösten N-Menge

Abbildung 3

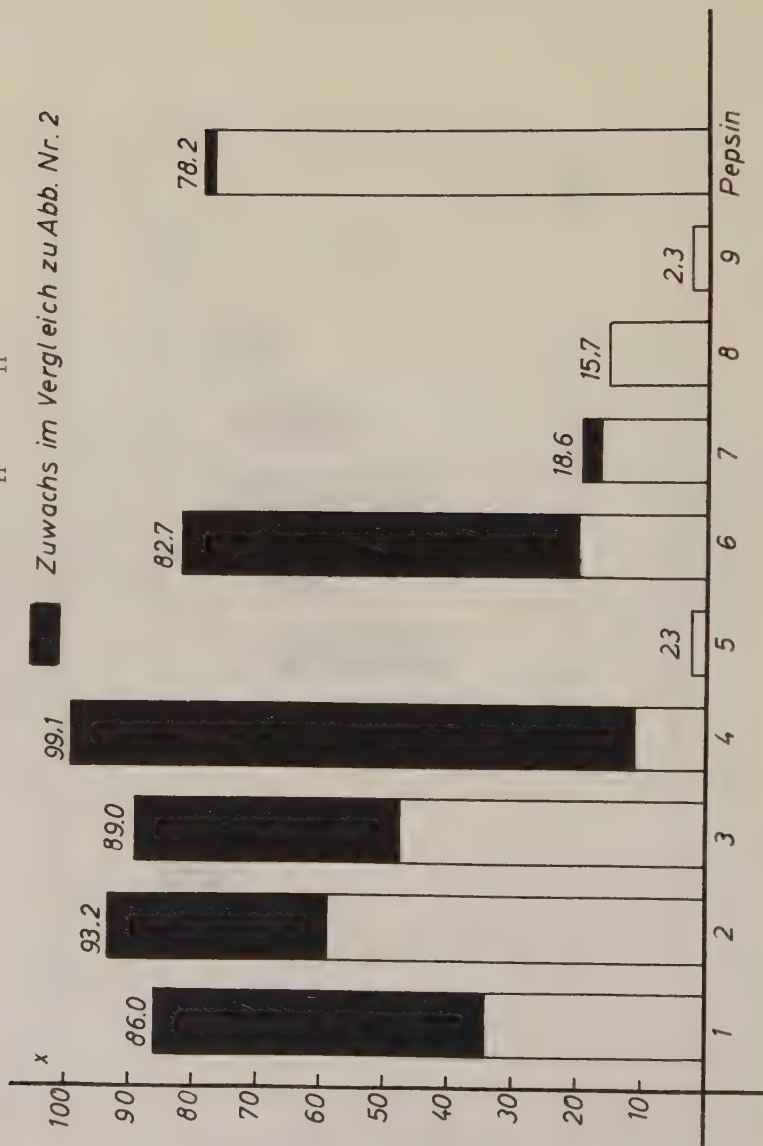
Proteolytische Aktivität der Fermentpräparate im sauer-alkalischen Milieu
bei Kälbernährmehl (p_H 1, 5 - p_H 8)



+) Angaben in % der bei gleicher Behandlung ohne Fermentzusatz ungelösten N-Menge

Abbildung 4

Proteolytische Aktivität der Fermentpräparate im sauer-alkalischen Milieu
bei Magermilchpulver (p_{H} 1, 5 - p_{H} 8)



+) Angaben in % der bei gleicher Behandlung ohne Fermentzusatz ungelösten N-Menge

in vitro-Verdauung bei p_H 8 erkennen lassen, ist bei Magermilchpulver eine weitere Lösung des N gegenüber der ausschließlich sauren Behandlung bei den Präparaten 5, 7, 8, 9 und Pepsin nicht festzustellen.

c) Proteolytische Aktivität der Fermentpräparate im alkalischen Milieu

Da, wie schon erwähnt, in der Tierfütterung die Möglichkeit gegeben ist, Futtermittelstoffe der Salzsäure-Pepsin-Verdauung im Magen durch Hüllsubstanzen unzugänglich zu machen, kann auch für die Zufütterung von Fermentpräparaten eine Einwirkung im rein alkalischen Milieu des Dünndarms in Frage kommen.

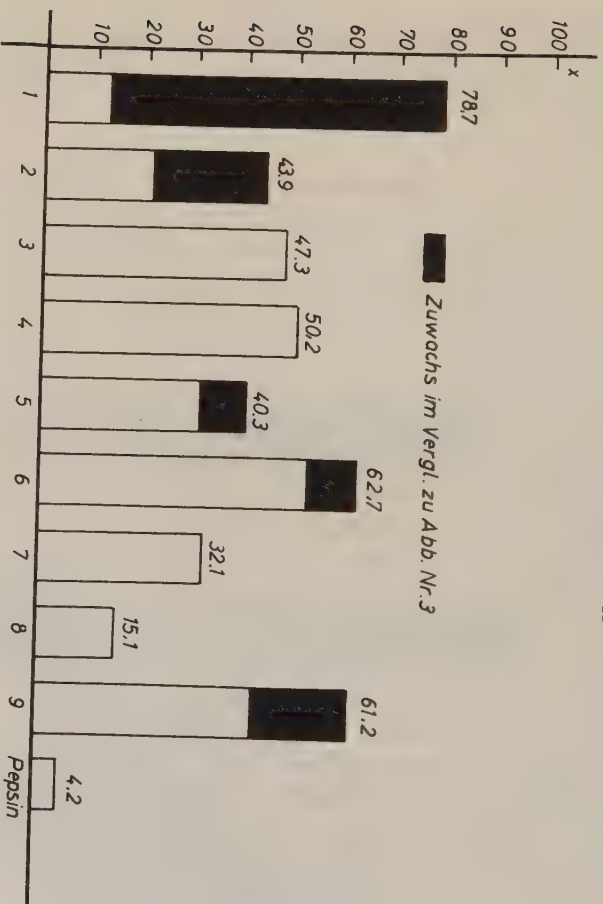
Für die entsprechenden in-vitro-Versuche wurden 3 g Substrat mit 0,5 g Fermentpräparat und 250 ml Phosphatpuffer von p_H 8 24 Stunden im Brutschrank bei $37^\circ C$ gehalten. Danach wurde durch Zugabe von 150 ml 20 %iger Trichloressigsäure das ungelöste Eiweiß ausgefällt, der Rückstand abfiltriert und in 100 ml Filtrat eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl durchgeführt.

Wie aus den Abb. 5 und 6 ersehen werden kann, ist die stickstofflösende Wirkung vieler Präparate bei diesen ausschließlich alkalischen Ansätzen sehr hoch, insbesondere beim Magermilchpulver. In einigen Fällen ist gegenüber der sauer-alkalischen in-vitro-Verdauung die in Lösung gegangene N-Menge erheblich angestiegen. Es kann dies wohl auf das Ausbleiben einer Aktivitätsabschwächung im sauren Milieu zurückgeführt werden. Besonders auffallend ist dieser Befund beim Kälbernährmehl bei den Präparaten 1, 2 und 9, beim Magermilchpulver bei den Präparaten 5 und 9.

Eine teilweise geringere in Lösung gegangene N-Menge gegenüber den sauer-alkalischen Versuchen zeigt entweder eine völlige Unwirksamkeit im alkalischen Bereich an oder deutet darauf hin, daß für diese Präparate eine vorhergehende Einwirkung im sauren Milieu die Angriffsmöglichkeit im alkalischen Bereich verbessert. So wurde, wie erwartet, beim Pepsin bei p_H 8 keine Aktivität, bei verschiedenen anderen eine wesentlich geringere als nach vorheriger Bebrütung bei p_H 1,5 gefunden.

Abbildung 5

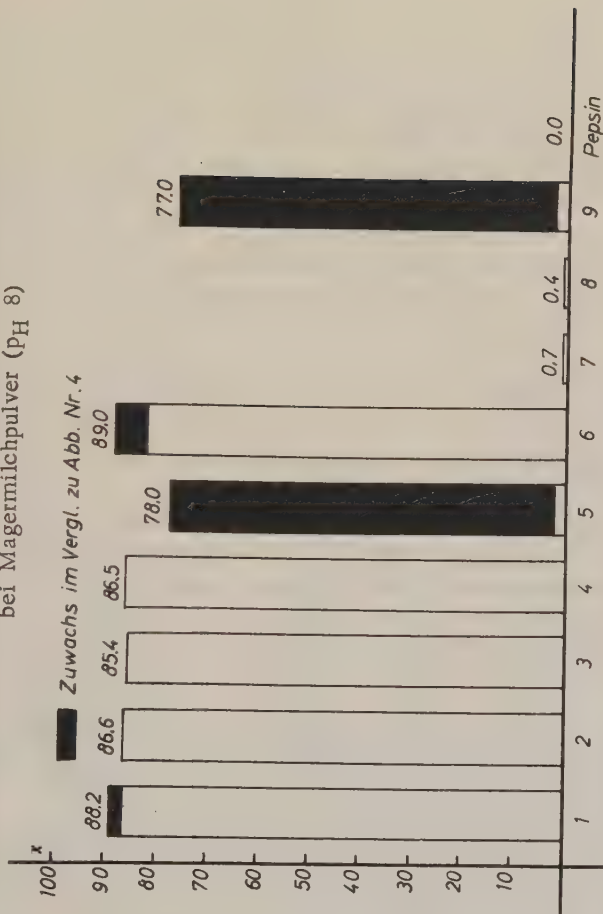
Proteolytische Aktivität der Fermentpräparate im alkalischen Milieu
bei Kälbernähmehl (pH 8)



+) Angaben in % der bei gleicher Behandlung ohne Fermentzusatz ungelösten N-Menge

Abbildung 6

Proteolytische Aktivität der Fermentpräparate im alkalischen Milieu
bei Magermilchpulver (pH 8)



+) Angaben in % der bei gleicher Behandlung ohne Fermentzusatz ungelösten N-Menge

d) Diskussion der Ergebnisse

Ein Überblick über die erhaltenen Werte zeigt an, daß bei fast allen Ansätzen eine unterschiedliche Wirkung der einzelnen Fermente auf die Substrate (Kälbernährmehl und Magermilchpulver) bestand. Während z.B. bei den in-vitro-Ansätzen im sauren Milieu (Abb. 2) das Präparat 2 bei Magermilchpulver eine starke, bei Kälbernährmehl nur eine geringe N-lösende Kraft besaß, konnte beim Präparat 9 genau das Gegenteil festgestellt werden. Ein typisches Beispiel dafür findet sich auch bei den Präparaten 2 und 7 im rein alkalischen Ansatz (Abb. 5 und 6). Der Grund für diese Befunde liegt wahrscheinlich in der einführend beschriebenen selektiven Aktivierung einer Reaktion durch Fermente, also einer Substratspezifität. Es dürfen somit die erhaltenen Ergebnisse keinesfalls verallgemeinert werden, sondern sie haben einzig und allein Gültigkeit für die untersuchten Materialien und die angewandten Bedingungen. So ist es z.B. vorstellbar, daß die bei allen Versuchen negativen Befunde mit dem Präparat 8 ausschließlich darauf zurückzuführen sind, daß hier der Schlüssel (Ferment) an einem Schloß (Substrat) ausprobiert wurde, zu dem er einfach nicht paßt (v. Euler). Es kann dieses Fermentpräparat dagegen für andere Eiweiße eine ganz hervorragende proteolytische Aktivität besitzen, die hier jedoch wegen eines "Versuches am untauglichen Objekt" nicht zur Auswirkung kommen konnte. Darüber hinaus kann im Überblick festgestellt werden, daß einzelne Fermentpräparate wie das Pepsin eine hohe Aktivität im sauren (Abb. 2), dagegen kaum oder nur eine geringe im rein alkalischen Ansatz zeigen (Abb. 5 und 6). Andere dagegen verhalten sich umgekehrt (Präparat 1). Offenbar zeigt sich hier deutlich die eingangs beschriebene p_H -Abhängigkeit der Fermentwirkungen. Scheinbar im Widerspruch zu dieser Auffassung stehen Präparate, die sowohl im sauren als auch im alkalischen Bereich wirksam sind (z.B. Präparat 3). Hier ist jedoch zu bedenken, daß die Präparate nicht oder doch nur zum Teil aus reinen Enzymen bestehen, sondern aus Rohpräparaten und Mischungen, die einzelne bei p_H 1,5 wirksame, andere bei p_H 8 stickstofflösende Fermente enthalten können.

Es kann aber aus der Tatsache, daß im sauren und im alkalischen Bereich eine Wirksamkeit vorhanden ist, nicht abgeleitet werden, daß sich dann bei einem Aufeinanderfolgen die Werte summieren müßten. Bei einer solchen Einwirkungsfolge kann die vorangehende Verdauung im sauren Milieu die Aktivität der an sich im basischen Bereich wirksamen Fermente zerstören oder doch herabsetzen. Ein gutes Beispiel dafür bildet das Fermentpräparat 9 beim Kälbernährmehl.

Häufig findet sich aber, daß eine alkalische in-vitro-Verdauung mit vorhergehendem sauren Aufschluß höhere N-Löslichkeiten ergibt als jeder Ansatz für sich allein (z.B. Präparat 4). Hier hat entweder die saure Vorverdauung dem im alkalischen wirkenden Ferment bessere Angriffsmöglichkeiten geschaffen, oder es erfolgte eine Aktivierung des im basischen Bereich wirksamen Ferments direkt durch die Säure oder entstandene Spaltprodukte.

Die Fermentpräparate 2 und 4 wurden von Balzer und Werner (16) als nahezu säurefest bezeichnet. Ein Vergleich der Ergebnisse von sauer-alkalischer und ausschließlich alkalischer Verdauung bei Kälbernährmehl (Abb. 3 und 5) zeigt, daß der Wert der sauer-alkalischen Verdauung von Fermentpräparat 2 bedeutend unter dem der ausschließlich alkalischen liegt. Die entsprechenden Versuche mit Magermilchpulver (Abb. 4 und 6) wie auch die des Präparats 4 mit beiden Substraten (Abb. 3 bis 6) stehen nicht im Gegensatz zu der oben zitierten Angabe. Dieses Ergebnis läßt den Schluß zu, daß das Fermentpräparat 2 nur bedingt säurefest ist.

3. In-vitro-Untersuchungen der lipatischen Aktivität der Fermentpräparate

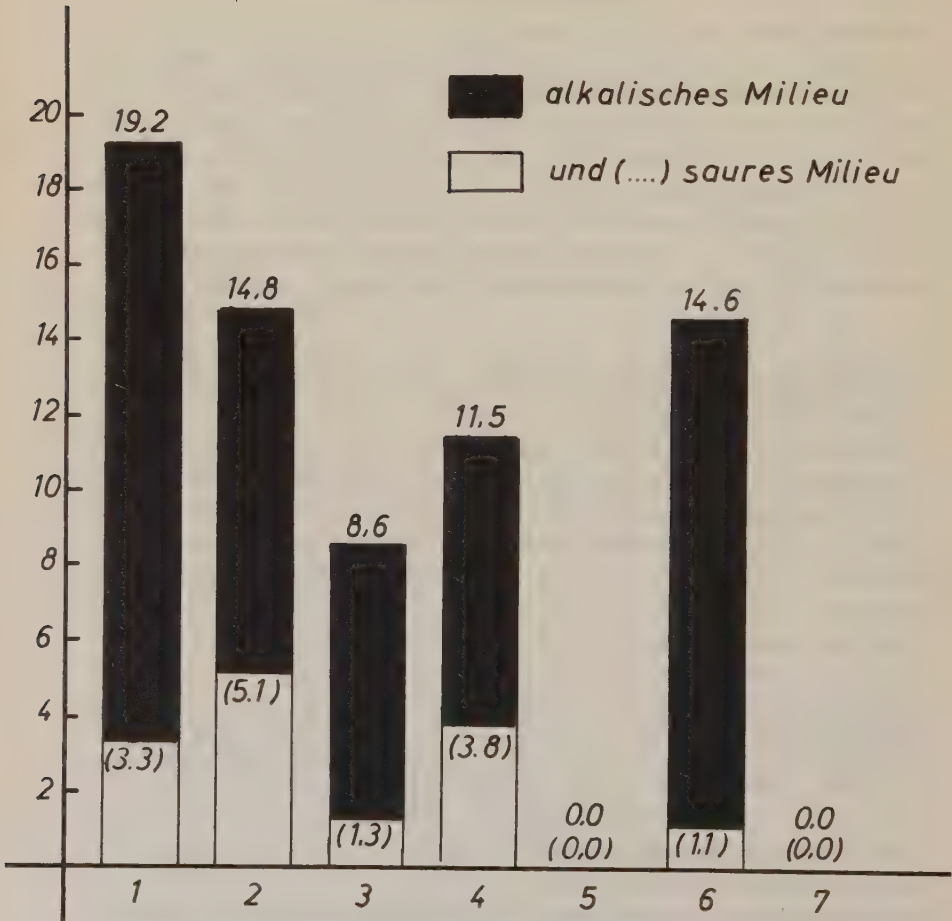
In Anlehnung an die Methoden-Vorschrift von Willstätter und Waldschmidt-Leitz (17) wurde Olivenöl mit einem basischen Puffer (p_H 8, 9) und einem sauren Puffer (p_H 4, 7) 60 bzw. 20 Minuten einer Einwirkung der Enzympräparate ausgesetzt. Eine Prüfung der sauer-alkalischen Verdauung wurde, da technisch schwierig, nicht durchgeführt.

a) Bestimmung der lipatischen Fermentaktivität im sauren Milieu

Ausführung: Es werden 0,5 g Enzympräparat mit 2,5 g Olivenöl (Verseifungszahl 190, 7) und 2 ml 0,5 n Acetatpuffer von p_H 4, 7 im Schliff-Fläschchen 3 Minuten bei 20 ° C kräftig geschüttelt und weitere 17 Minuten bei 20 ° C im Wasserbad belassen. Dann wird das Gemisch mit ca. 30 ml 96 %igem Alkohol in einen 250 ml Erlenmeyerkolben übergespült und die gebildeten freien Fettsäuren nach Zugabe von 15 ml Äther mit n KOH gegen Phenolphthalein titiert. Man läßt einen Blindversuch (ohne Olivenöl) mitlaufen, da der Puffer und das Enzympräparat einen Eigenverbrauch haben.

Abbildung 7

Lipatische Aktivität der Fermentpräparate im sauren
und alkalischen Bereich



+) Angaben in % der insgesamt vorhandenen ungespaltenen Fettsäuren

Berechnung: 0,5 g Enzympräparat läßt man 20 Minuten bei 20 ° C auf 2,5 g Olivenöl (Verseifungszahl 190,7) in Gegenwart von 2 ml 0,5 n Acetattpuffer einwirken. Der Versuch an Lauge (n KOH, Molgew. 56,11) entspricht dann z.B. 3,20 ml im Hauptversuch und 1,08 ml im Blindversuch. Aus der Differenz (2,12 ml) berechnet sich eine Verseifung von

$$\frac{2,12 \times 56,11 \times 100}{2,5 \times 190,7} = 24,95 \%$$

Bei keinem der untersuchten Enzympräparate war eine wesentliche Wirkung im sauren Milieu feststellbar (Abb. 7).

b) Bestimmung der lipatischen Fermentaktivität im alkalischen Milieu

Ausführung: Zu 30 mg Fermentpräparat werden 24,8 ml Wasser, 10,00 g Olivenöl (Verseifungszahl 190,7), 8 ml Puffer von p_H 8,9, 1,6 ml 2 %ige CaCl₂ Lösung, 1,6 ml 3 %ige Albuminlösung und zuletzt 1,6 ml 2 %ige Na-Acetatlösung hinzugegeben. Das Gemisch wird sofort einige Sekunden kräftig geschüttelt und dann 60 Minuten bei mäßiger Bewegung im Schüttelthermostaten bei 37 ° C stehen gelassen. Zur Titration werden 100 ml 96 %iger Alkohol hinzugefügt und mit 20 ml Äther die Lösung des Öles vervollständigt. Als Indikator dient eine 1 %ige alkoholische Thymolphthalein-Lösung. Es wird bis zur deutlich blauen Färbung mit n/10 bis n/1 alkoholischer KOH titriert. Der Verbrauch an KOH für den Puffer allein und für das Fermentpräparat allein wird gesondert bestimmt.

Berechnung: Die Einwaage betrug 10 g Olivenöl. Bei der Titration mit n/2 KOH wurden z.B. im Hauptversuch 27,64 ml, im Blindversuch 13,25 ml verbraucht. Aus der Differenz (14,39 ml) berechnet sich eine Verseifung von

$$\frac{14,39 \times 28,05 \times 100}{10 \times 190,7} = 21,16 \%$$

c) Ergebnisse

Im basischen Bereich wurde mit den Fermentpräparaten allgemein eine höhere Fettsäureabspaltung erzielt als bei p_H 4,7 (Abb. 7). Die höchste Fettsäureabspaltung von ca. 20 % wurde mit dem Präparat 1 erzielt. Die vom Hersteller dem Präparat 2 zugefügten Gallenbestandteile haben die Wirkung nicht über die von 1 und 6 zu steigern vermocht.

4. In-vitro-Untersuchungen der amylolytischen Aktivität der Fermentpräparate

Fein gemahlenes Haferschrot wurde im sauren Bereich (p_H 1,5) 48 Stunden, im alkalischen Milieu (p_H 7,8) 24 Stunden und nacheinander bei beiden Reaktionen der Einwirkung der Fermente ausgesetzt.

a) Bestimmung der amylolytischen Fermentaktivität im sauren Milieu

10 g Haferschrot wurden 48 Stunden mit 1,5 g Fermentpräparat, 480 ml Wasser und 2 x 10 ml 25 %iger HCl für 48 Stunden bei 37 ° C im Brutschrank gehalten. Dann wurde die Gesamtlösung mit 40 %iger NaOH neutralisiert und zur Klärung 6 ml 15 %iges Ferrocyankalium und 6 ml 23 %iges Zinkacetat hinzugefügt. Das gemessene Gesamtvolumen wird filtriert und vom Filtrat 50 ml invertiert (s. Seite 25). Jeweils 1 Blindversuch mit Haferschrot ohne Fermentpräparat und mit Fermentpräparat ohne Haferschrot wurden gleichzeitig durchgeführt.

b) Bestimmung der amylolytischen Fermentaktivität im alkalischen Milieu

10 g Haferschrot werden mit 1,5 g Fermentpräparat und 480 ml n/15 Phosphatpuffer von p_H 7,8 gut durchgeschüttelt und 24 Stunden bei 37 ° C stehen gelassen. Nach der Neutralisation mit 25 %iger HCl werden 6 ml 15 %iges Ferrocyankalium und 6 ml 23 %iges Zinkacetat hinzugefügt und nach Volumenfeststellung filtriert. Jeweils ein Blindversuch mit Haferschrot ohne Fermentpräparat und mit Fermentpräparat ohne Haferschrot werden gleichzeitig durchgeführt. 50 ml des Filtrates werden invertiert (s.u.). Häufig war wegen schleimiger Substanzen eine Filtration nach der Fermenteinwirkung bei p_H 7,8 unmöglich. Es wurde daher bei 10.000 U/Min. abzentrifugiert.

c) Bestimmung der amylolytischen Fermentaktivität im sauer-alkalischen Milieu

Es wird wie vorhergehend beschrieben verfahren, jedoch wird nach den 48 Stunden Einwirkung bei p_H 1,5, nicht mit Ferrocyankalium und Zinkacetat geklärt, sondern nach der Neutralisation mit 40 %iger NaOH bis zu p_H 7,8 weiter NaOH zugegeben. Dann werden 20 ml des Puffers p_H 7,8 zugegeben und wie unter b) beschrieben weiterbehandelt.

Inversion: 50 ml Filtrat werden mit 25 ml Wasser und 5 ml 36 %iger HCl im 100 ml Meßkölbchen versetzt und genau 5 Minuten im Wasserbad von 70 ° C gehalten. Danach wird unter fließendem Wasser schnell abgekühlt, mit 28 %iger NaOH gegen Phenolphthalein neutralisiert, auf 100 ml aufgefüllt und filtriert.

25 ml des jeweilig invertierten Filtrates werden mit 25 ml Lugolscher Lösung ¹⁾ und 25 ml Wasser versetzt. Nach Zusatz einiger Siedesteinchen wird auf einer Asbestplatte in 2 Minuten zum Sieden erhitzt und mit kleiner Flamme 10 Minuten weiter gekocht. Es wird unter fließend Wasser abgekühlt und nach 5 Minuten folgende Titration durchgeführt:

Das überschüssige CuSO_4 wird nach Zugabe von 3 ml n KJ-Lösung (16,6 g KJ in 100 ml H_2O), 20 ml 25 %iger HCl und 10 ml 2 %iger KSCN-Lösung (die Reihenfolge muß unbedingt eingehalten werden) zu Kupfer-Jodid und freiem Jod umgesetzt:



Ein entsprechender Blindwert (Wasser statt Filtrat) wird ebenfalls bestimmt.

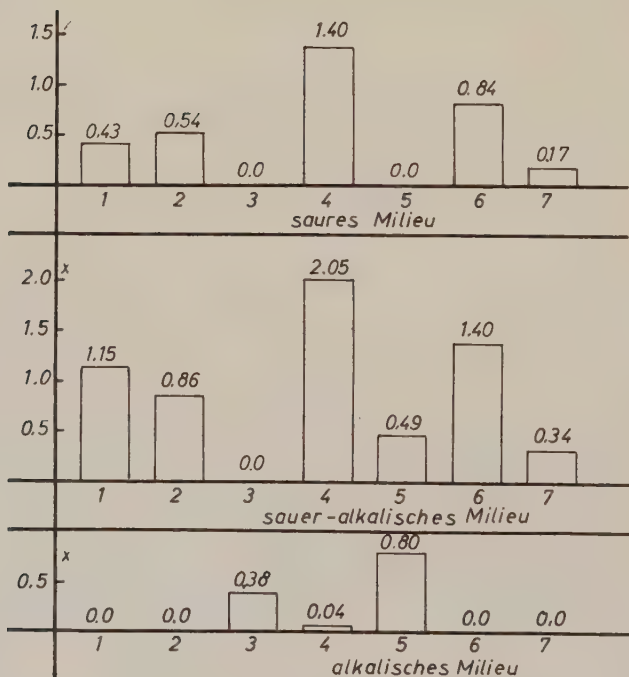
Man schwenkt bis zum Auflösen der Gasbildung um und titriert mit n/10 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ mit Stärkelösung als Indikator von blau nach rahmfarbig.

Berechnung: Es wurden z.B. bei einer Verdauung von 10,00 Haferschrot aus einem Gesamtvolumen von 520 ml 50 ml invertiert und dabei auf 100 ml aufgefüllt. In 25 ml dieser Lösung wird der Gehalt an freier Glukose bestimmt. Bei der Titration wurden 2,5 ml n/10 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ verbraucht. Dieser Wert entspricht laut Tabelle (18) 5,5 mg Glukose. Bei 50 ml zu invertierender Lösung waren demnach $5,5 \times 4 = 22$ mg Glukose, in 520 ml (= 10,00 g Haferschrot) 242 mg Glukose enthalten. Nach vollständiger Hydrolyse mit konz. HCl wurden in 10 g Haferschrot 6430 mg Glukose, nach Behandlung ohne Fermentzugabe 187 mg Glukose gefunden. Es sind demnach in 10 g Haferschrot $6430 - 187 = 6243$ mg Glukose ungelöst enthalten. Von dem Wert nach der Ferment-Einwirkung (242 mg Glukose) ist der Wert ohne Fermenteinwirkung (187 mg Glukose) abzuziehen und diese Differenz (55 mg Glukose) in % der normal ungelösten Glukosemenge (6243 mg) anzugeben. Bei obigem Beispiel beträgt der Wert 0,88 %.

- 1) Lugolsche Lösung: Man löst 50 g Zitronensäure in 50 ml Wasser und 388 g kristallisiertes Na_2CO_3 in 350 ml lauwarmen Wasser, vereinigt beide Lösungen und fügt dann 25 g krist. CuSO_4 (eisenfrei) in 100 ml Wasser hinzu. Die filtrierte Lösung ist unbegrenzt haltbar.

Abbildung 8

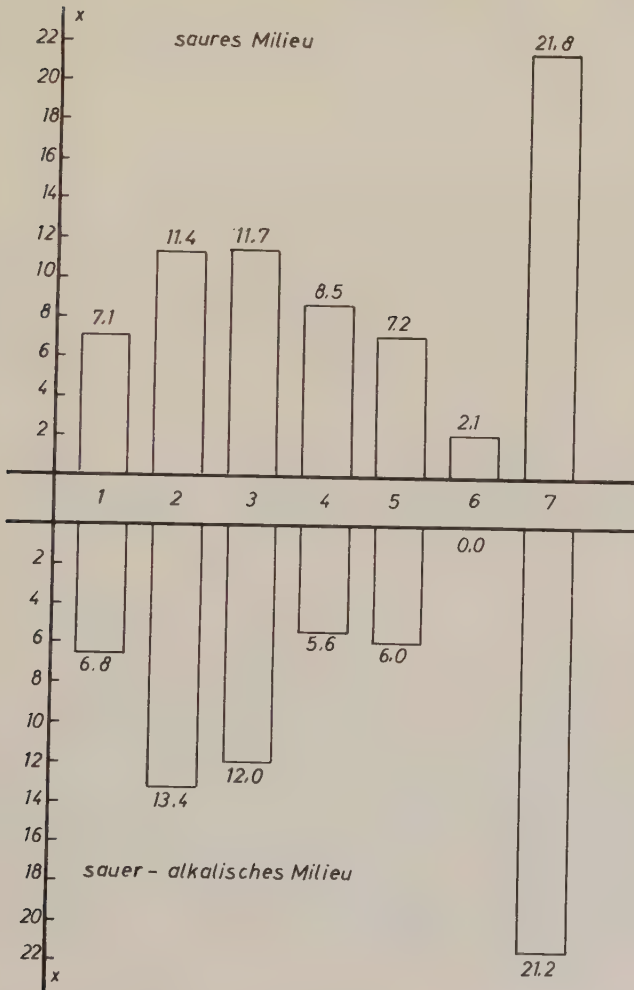
Amylolytische Aktivität der Fermentpräparate im sauren, sauer-alkalischen und alkalischen Milieu



+) Angabe in % der bei gleicher Behandlung ohne Fermentzusatz nicht gelösten Glukosemenge

Abbildung 9

Cellulatische Aktivität der Fermentpräparate im sauren
und sauer-alkalischen Milieu



+) Angaben in % der bei gleicher Behandlung ohne Fermentzusatz
nicht gelösten Rohfasermenge

d) Ergebnisse (Abb. 8)

Obgleich bei einigen Fermentpräparaten von Seiten der Herstellerfirmen eine amylolytische Aktivität mitgeteilt wurde, konnte bei den Untersuchungen nur bei wenigen Ansätzen eine geringgradige Freisetzung von reduzierenden Zuckern aus Haferschrot beobachtet werden. Es ist dies wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß der Untersuchungsvorgang den physiologischen Gegebenheiten bei monogastrischen Nichterbivoren angepaßt war. Er entsprach also nicht den Methodenvorschriften für die Feststellung von Amylase-Einheiten.

5. In-vitro-Untersuchungen der cellulatischen (Rohfaser lösenden) Fermentaktivität

Fein gemahlener Haferschrot wurde bei p_H 1,5 7,8 und beiden Reaktionen gemeinsam über 48 bzw. 24 Stunden bei $37^\circ C$ der Fermenteinwirkung ausgesetzt. Die Versuchsansätze entsprachen denen, wie sie zur Prüfung der proteolytischen Aktivität beschrieben wurden. Statt der N-Bestimmung im Filtrat erfolgte hier demgegenüber jeweils eine Rohfaserbestimmung im Rückstand. Vor dem Abnutschen über 2 g Asbest wurde mit 50 ml 2 %iger Trichloressigsäure gefällt.

Berechnung: Die Einwaage betrug 3,0010 g Haferschrot, die Trockensubstanz nach Behandlung mit dem jeweiligen Fermentpräparat und Kochen mit Säure und Lauge 0,2212 g, der Glühverlust 0,0058 g. Der Rohfasergehalt bei diesem Ansatz nach der Fermentbehandlung betrug also 0,2154 g = 7,2 %. An Rohfaser sind im Fermentpräparat 0,0000 %, im Haferschrot ohne Fermenteinwirkung 9,14 % vorhanden. Durch die Fermenteinwirkung ist danach der Rohfasergehalt von 9,14 % auf 7,2 % gefallen, das entspricht 21,2 % der gesamten Rohfasermenge.

Ergebnisse: Der Vergleich von saurer und sauer-alkalischer Verdauung (Abb. 9) zeigt, daß bei anschließend alkalischem Milieu keine Erhöhung der gelösten Rohfasermenge erzielt wurde. Im allgemeinen ist die Wirkung gering (maximal 22 %). Bei den Versuchen im ausschließlich basischen Milieu wurde bei allen Präparaten, mit Ausnahme von Präparat 2 (4,4 %) und Präparat 1 (1,7 %), keine Rohfaser durch die Enzympräparateinwirkung zusätzlich abgebaut.

ZUSAMMENFASSUNG

In der Einleitung wurde kurz auf die Möglichkeit der Verwendung von Fermentpräparaten in der Tierernährung hingewiesen. Im Anschluß wurde ein Überblick über die Eigenschaften der Fermente unter besonderer Berücksichtigung der Verdauungsfermente und eine kurze Darstellung einiger Fütterungsversuche mit Fermentsupplementen bei landwirtschaftlichen Nutztieren gegeben. Die eigenen Versuche sind in folgenden Punkten zusammenzufassen:

1. Die Untersuchungen erfolgten im Hinblick auf den Einsatz von Fermenten in der Tierernährung. Der Untersuchungsang war daher weitgehend den Gegebenheiten im Verdauungstrakt monogastrischer Nichtherbivoren angepaßt. Es erfolgte eine Prüfung der Fermentaktivität im sauren (p_H 1, 5), sauren und nachfolgend basischen (p_H 8) und ausschließlich basischem Bereich (für event. Anwendung einer Schutzhülle).
2. Die proteolytische Wirksamkeit war bei verschiedenen Substraten unterschiedlich. Zum Teil wurde die im alkalischen Bereich feststellbare Fermentaktivität bei der vorhergehenden sauren Behandlung zerstört. Zum Teil ergab eine saure Vorverdauung bessere Resultate bei der nachfolgenden alkalischen Verdauung als bei ausschließlich alkalischer Verdauung.
3. Die lipatische Wirkung von Fermentpräparaten war allgemein im alkalischen Bereich besser als im sauren.
4. Demgegenüber zeigten die Präparate bei der Prüfung der cellulatischen Wirkung im sauren Bereich allgemein eine höhere Aktivität, die durch nachfolgende alkalische Behandlung nicht erhöht wurde.
5. Die amylolytische Aktivität der Fermentpräparate war bei allen Untersuchungen sehr gering.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Abderhalden, E. Lehrbuch der Physiologischen Chemie.
Verlag Schwabe und Co.
1941, 3. Auflage
2. Edelbacher, S. Lehrbuch der Physiologischen Chemie.
Leuthardt, F. Verlag Walter de Gruyter & Co., Berlin.
1954, 11. Auflage
3. Brüggemann, J., Lehrbuch der Veterinär-Physiologie.
Horn, V., Scheunert, H. Verlag Paul Parey, Berlin u. Hamburg,
Hill, A. 1957, 4. Auflage
4. Catron, D.V., Enzymes in Baby Pig Nutrition.
Baker, R.O., Proc. 9th Res. Conf.
Hartmann, P.A. Am. Meat Inst. University of Chicago 1957
5. Kvasnitskii, A.V., Vet. Bull. 13, 222, (1943)
Bakeeva, E.N.
6. Vazquez, C. Rev. Espan. pediat. 7, 75 (1951)
Nutr. Abst. Revs. 21, 111 (1951, Ref.)
7. Ohne Autorenangabe Enzymes in Pig Feed.
Agric. and Food Chem. 5, 484, (1957)
8. Cunningham, H.M., The Effect of Proteolytic Enzymes on the
Brisson, G.J. Utilization of Animal and Plant Proteins by
Newborn Pigs and the Response to Predigested
Protein.
J. Anim. Sic. 16, 568, (1958)
9. William, J.B. The Supplementation of Milk-Replacement
Knodt, C.B. with Enzymes and other Products.
J. Anim. Sci. 10, 975, (1951)

10. Scharpenseel, H.W. Über betriebseigene Futtersupplemente
und ihre Bedeutung bezüglich Wachstums-
beschleunigung und Ersparnis tierischen
Eiweißes in der Hühnerhaltung.
Landw. Forschg. 9, 31, (1956)

11. Lewis, C.J., Catron, D.V., Enzyme Supplementation of Baby Pig Diets.
Liu, C.H., Speer, V.C., Agric. and Food Chem. 3, 1047 (1955)
Ashton, S.C.

12. Jensen, L.S. Fermente in der Tierernährung
Cornell Nutr. Conf., Proc. 1958

13. Fry, R.E., Allred, J.B., Influence of Enzyme Supplementation and
Jensen, L.S., McGinnis, J. Water Treatment on the Nutritional Value
of Different Grains for Poults.
Poultry Sci. 37, 372, (1958)

14. Fry, R.E., Allred, J.B., Die Wirkung geschälter Gerste und ver-
Jensen, L.S., McGinnis, J. schiedene Ergänzungen zu Gerstenrationen
auf das Wachstum und die Futterverwer-
tung von Küken.
Poultry Sci. 37, 281, (1958)

15. Cunningham, H.M. Digestion of Starch and Some of its
Degeneration Products by Newborn Pigs.
J. Anim. Sci. 18, 964, (1959)

16. Balzer, E., Werner, K. Untersuchung über die Eignung von Fer-
mentpräparaten für die Substitution von
Pankreasfermenten.
Med. Klin. 48, 1036, (1953)

17. Bamann, E., Myrbäck, K. Die Methoden der Fermentforschung.
Verlag Georg Thieme, Leipzig. 2, 1941

18. Beythien, A. Laboratoriumsbuch für den Lebensmittel-
chemiker. Verlag Theodor Steinkopf.
Dresden & Leipzig 1951; 6. Auflage.

Herrn Professor Dr. Dr. Hohannes Brüggemann
möchte ich für die Überlassung des Themas und
die jederzeit gewährte Unterstützung in seinem In-
stitut meinen Dank sagen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Privat-Dozenten
Dr. Dr. Kraft Drepper für seine stets liebenswür-
dige und hilfreiche Beratung.

LEBENS LAUF

Am 8. November 1933 wurde ich als Sohn des Diplom-Ingenieurs Ulrich Ahrens und seiner Ehefrau Erica, geb. Michaelsen, zu Schwerin in Mecklenburg geboren.

Von 1940 bis zum Jahre 1943 besuchte ich die Volksschule in Schwerin und wurde dann in das Gymnasium Friedericianum zu Schwerin aufgenommen. Nach Unterbrechungen der Schulzeit durch Kriegsende und spätere Flucht aus der sowjetischen Besatzungszone bestand ich 1955 die Reifeprüfung am Helmholtz-Gymnasium zu Essen.

Seit November 1955 studiere ich Veterinärmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München und befinde mich seit März 1960 im Examen.

